

Systèmes SYNCHRON CX®
Mode d'emploi

© Copyright 2008 Beckman Coulter, Inc.

AMM
Ammoniaque
Coffret référence 439770

Pour utilisation diagnostique *in vitro*

REVISION ANNUELLE

Revu par :	Date	Revu par :	Date

PRINCIPE

APPLICATION

Le réactif AMM, utilisé avec le Systèmes SYNCHRON CX® et le Calibrateur ammoniaque pour les systèmes SYNCHRON®, est destiné à la détermination quantitative de la concentration de Ammoniaque (AMM) dans le plasma humain.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Le niveau d'ammoniaque circulatoire chez les individus normaux est relativement bas bien que ce composé soit produit continuellement par le métabolisme alimentaire et des acides aminés. Le contrôle des niveaux d'ammoniaque dans le sang peut être utile pour le diagnostic de l'encéphalopathie hépatique et du coma hépatique en phase terminale de la cirrhose du foie, de l'insuffisance hépatique, de la nécrose aiguë et sous-aiguë et du syndrome de Reye. L'hyperammonémie chez les nourrissons peut être un signe de déficiences héréditaires de la voie métabolique du cycle de l'urée.

METHODOLOGIE

Le réactif AMM est utilisé pour mesurer Ammoniaque par une méthode à point final minutée. Au cours de la réaction, le glutamate déshydrogénase (GLDH) catalyse la condensation de AMM et α-cétoglutarate en glutamate avec l'oxydation concomitante de la β-nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) réduite en β-nicotinamide adénine dinucléotide phosphate ($NADP^+$). La quantité de NADPH oxydé est directement proportionnelle à la quantité de la substance à analyser dans l'échantillon.[1,2]

Le Systèmes SYNCHRON CX® distribue automatiquement les volumes appropriés d'échantillon et de réactif dans la cuve à réaction. Le rapport de dilution suivant est utilisé : 1 volume d'échantillon pour 9 volumes de réactif. Le système contrôle la variation de l'absorbance à 340 nanomètres. Cette variation d'absorbance est directement proportionnelle à la concentration de AMM dans l'échantillon et est utilisée par le système pour calculer et exprimer la concentration en AMM.

REACTION CHIMIQUE

$$NH_3 + \alpha\text{-cétoglutarate} + \beta\text{-NADPH} + H^+ \xrightarrow{GLDH} \text{Glutamate} + \beta\text{-NADP}^+ + H_2O$$

F015179L.EPS

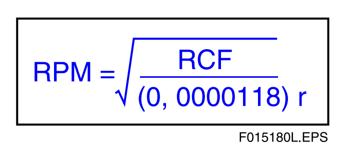
ECHANTILLON

TYPE D‘ECHANTILLON

Les échantillons de liquide biologique doivent être prélevés selon la procédure utilisée pour tout test de laboratoire clinique.[3] Il est préférable d’utiliser des échantillons de plasma fraîchement prélevés. Les anticoagulants pouvant être utilisés sont listés à la section REMARQUES SUR LA PROCÉDURE de ce mode d’emploi. Il n’est pas recommandé d’utiliser des échantillons de sang total, de sérum ou d’urine.

CONSERVATION ET STABILITE DES ECHANTILLONS

Les tubes doivent être complètement remplis, mélangés doucement par renversement, placés sur de la glace, centrifugés immédiatement pendant 10 minutes à une FCR de 1500 g et analysé dans une limite de 30 minutes. Les échantillons ne doivent pas être congelés. Les tubes doivent être maintenus bouchés à tout moment. Les tours par minute peuvent être calculés à partir de la valeur g à l‘aide de l‘équation suivante :



$$RPM = \sqrt{\frac{RCF}{(0,\ 0000118)\ r}}$$

F015180L.EPS

r = Rayon de rotation (centimètres)
FCR = Force centrifuge relative (gravités)

Conditions supplémentaires concernant la conservation et la stabilité des échantillons, définies par le laboratoire :

VOLUME D‘ECHANTILLON

Si une cuve à échantillons de 0,5 mL est utilisée, le volume optimum de léchantillon est de 0,3 mL. Pour connaître le volume optimum dans les tubes à échantillon, consultez les volumes minimums requis dans le tableau Tube échantillon primaire (réf. 248511).

CRITERES DE REJET D‘ECHANTILLONS

Se référer à la section REMARQUES PROCÉDURALES de ce mode demploi pour avoir les échantillons qui ne peuvent être acceptés.

Critères de rejet d‘échantillons propres au laboratoire :

PREPARATION DU PATIENT

Instructions spéciales concernant la préparation du patient, propres au laboratoire :

MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Instructions spéciales du laboratoire concernant la manipulation des échantillons :

REACTIFS

CONTENU

Chaque coffret contient les articles suivants :

Deux cartouches de réactif ammoniaque (2 x 25 tests)
Un flacon de calibrateur ammoniaque, niveau 1 (25 µmol/L) (liquide, 5 mL)
Un flacon de calibrateur ammoniaque de niveau 2 (300 µmol/L) (liquide, 5 mL)

VOLUMES PAR TEST

Volume d‘échantillon	25 µL
Volume total de réactif	226 µL
Volumes des cartouches	
A	180 µL
B	40 µL
C	6 µL

COMPOSANTS ACTIFS

CONSTITUANTS DU REACTIF	
α-cétoglutarate	3,23 mmol/L
ADP	1,9 mmol/L
NADPH	0,22 mmol/L
GLDH (foie de boeuf)	>10 U/L

Contient également d‘autres composés non réactifs nécessaires aux performances optimales du système.

CONSTITUANTS DU CALIBRATEUR

Sulfate d'ammoniaque dans 0,01M d'acide sulfurique 154 µmol/L

Contient également d'autres composés non réactifs nécessaires aux performances optimales du système.

CLASSIFICATION EUROPÉENNE DES SUBSTANCES DANGEREUSES

Réactif ammoniaque (compartiment B)	Xn;R22	Nocif en cas d'ingestion.
	S37/39	Porter des gants appropriés et un appareil de protection des yeux/du visage.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC LE COFFRET A REACTIFS

Au moins deux niveaux de matériel de contrôle
Eau déionisée sans ammoniaque

PREPARATION DU REACTIF

Aucune préparation n'est nécessaire.

PERFORMANCES ACCEPTABLES DU REACTIF

L'acceptabilité d'un réactif est déterminée par un étalonnage réussi et par des résultats de contrôle de qualité respectant les critères d'acceptation du laboratoire.

CONSERVATION ET STABILITE DU REACTIF

Le réactif AMM est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette s'il est conservé non ouvert entre +2 °C et +8 °C. Une fois ouvert, le réactif est stable pendant 30 jours entre +2 °C et +8 °C, à moins que la date d'expiration ne soit dépassée.

Lieu de stockage du réactif :

ETALONNAGE

CALIBRATEUR NECESSAIRE

Calibrateur ammoniaque pour les systèmes SYNCHRON® (compris dans le coffret de réactif ammoniaque des systèmes SYNCHRON)

PREPARATION DU CALIBRATEUR

Aucune préparation n'est nécessaire.

CONSERVATION ET STABILITE DU CALIBRATEUR

S'ils ne sont pas ouverts, il est possible de conserver les calibrateurs ammoniaque entre +2 °C et +8 °C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon du calibrateur. Les calibrateurs ouverts, conservés entre +2 °C et +8 °C sont stables pendant 60 jours à moins que la date d'expiration ne soit dépassée.

⚠ ATTENTION

Ce produit est d'origine humaine et il doit être manipulé comme étant susceptible de transmettre des maladies infectieuses. Chaque unité de sérum ou de plasma utilisée pour la préparation de ce produit a été testée selon des méthodes approuvées par la "Food and Drug Administration" (FDA - Administration américaine des produits alimentaires et pharmaceutiques) et a été trouvée négative quant à la présence d'anticorps anti-VIH 1 et 2 et anti-HCV, et négative pour l'antigène Hbs. Comme aucune méthode ne peut offrir la certitude totale que le virus du sida, de l'hépatite B et de l'hépatite C ou tout autre agent infectieux d'origine humaine non recherché est absent du produit, celui-ci doit être manipulé comme étant susceptible de transmettre des maladies infectieuses, conformément aux précautions en usage. Ce produit peut également contenir d'autres substances d'origine humaine qui n'ont pas été mises en évidence car il n'existe pas de test approprié pour les détecter, ou n'ont pas été recherchées. La FDA recommande que de tels échantillons soient manipulés selon le niveau 2 concernant la sécurité sur les substances biologiques des Centers for Disease Control.[4]

Emplacement de conservation des calibrateurs :

INFORMATIONS SUR L'ETALONNAGE

1. Le système doit avoir des facteurs d'étalonnage valides en mémoire avant d'exécuter les échantillons de contrôle ou de patient.
2. Dans des conditions de fonctionnement habituelles, la cartouche de réactif AMM doit être étalonnée tous les 5 jours ou encore lors du remplacement de certaines pièces ou lors de certaines procédures d'entretien, comme indiqué dans le *manuel d'utilisation* du SYNCHRON CX.
3. Pour plus de détails sur l'étalonnage voir la section 6 du *manuel d'utilisation* du SYNCHRON CX.
4. Le système exécute automatiquement des contrôles de vérification de l'étalonnage et fournit des données à la fin de l'étalonnage. En cas d'échec de l'étalonnage, le système imprime les résultats accompagnés des codes d'erreur et avertit l'opérateur de l'échec. Pour obtenir une explication des codes d'erreur, consulter l'annexe G de la section 10 du *manuel d'utilisation* SYNCHRON CX.

VALEURS AFFECTEES DU CALIBRATEUR

Les niveaux de calibrateur ammoniaque SYNCHRON 1 et 2 standard contiennent respectivement des concentrations d'ammoniaque de 25 µmol/L et de 300 µmol/L.

RESUME DU CALIBRATEUR

Les calibrateurs ammoniaque SYNCHRON sont dérivés d'un sérum humain qui a été traité et auquel du sulfate d'ammoniaque a été rajouté. Le dosage des calibrateurs donne une valeur de réponse pour le calcul de la pente et du décalage qui est utilisé par le système SYNCHRON pour établir une courbe d'étalonnage pour le lot de réactif.

LIMITES DES CALIBRATEURS

Le Calibrateur ammoniaque pour les systèmes SYNCHRON® doit seulement être utilisé avec le SYNCHRON Systems et les réactifs SYNCHRON AMM. Des conditions inadéquates de conservation du Calibrateur ammoniaque pour les systèmes SYNCHRON® risquent de causer des résultats erronés.

TRAÇABILITÉ

La mesurande Ammoniaque (substance à analyser) dans ce calibrateur est imputable à la méthode de dosage sélectionnée par le fabricant.[2] Le processus de traçabilité est basé sur le prEN ISO 17511.

Les valeurs cibles Ammoniaque ont été établies en se basant sur laddition gravimétrique de quantités spécifiques du mesurande pour atteindre la concentration appropriée.

Les valeurs ont été vérifiées à l'aide d'échantillons représentatifs provenant de ce lot de calibrateur et sont spécifiques des techniques de dosage de Systèmes SYNCHRON CX®. Les valeurs déterminées à l'aide d'autres techniques peuvent être différentes. De telles différences, si présentes, peuvent être causées par un biais inter-méthodes.

CONTROLE DE QUALITE

Au moins deux niveaux de matériaux de contrôle normal et anormal doivent être analysés tous les jours. De plus, ces contrôles doivent être effectués à chaque nouvel étalonnage, lorsqu'une nouvelle cartouche de réactifs est entamée et après chaque opération de maintenance ou de réparation comme expliqué dans le *manuel d'utilisation* du SYNCHRON CX. Si le volume d'analyses ou la cadence d'utilisation sont importants, il sera peut-être nécessaire d'effectuer des contrôles plus fréquents ou d'utiliser des contrôles supplémentaires.

Les contrôles suivants doivent être préparés et utilisés selon leur notice respective. Les résultats de contrôle de la qualité qui divergent doivent être évalués par votre laboratoire.

Tableau 1.0 Matériel de contrôle de qualité

NOM DU CONTROLE	TYPE D'ECHANTILLON	CONSERVATION

PROCEDURE(S) DE TEST

REMARQUE

Le système doit fonctionner à +37 °C.

1. Si nécessaire, charger le réactif sur le système comme indiqué dans la section 6 *manuel d'utilisation* du SYNCHRON CX.
2. Une fois le chargement du réactif terminé, l'étalonnage doit être fait. Se référer à la section 6 du *manuel d'utilisation* du SYNCHRON CX pour plus de détails sur la procédure d'étalonnage.
3. Programmer les échantillons et les contrôles pour l'analyse comme indiqué dans la section 6 du *manuel d'utilisation* du SYNCHRON CX.

4. Après chargement des échantillons et des contrôles sur le système, suivre les protocoles d’utilisation du système comme décrit dans la section 6 du *manuel d’utilisation* du SYNCHRON CX.

CALCULS

Le système effectue automatiquement tous les calculs et fournit le résultat final sous forme de rapport. Les systèmes SYNCHRON CX4/5 n‘effectuent pas les calculs des dilutions d‘échantillon faites par l‘utilisateur. Dans ce cas, le résultat fourni par l‘instrument doit être multiplié par le facteur de dilution pour obtenir le résultat final. Les systèmes SYNCHRON CX4CE/5CE/7 (y compris les systèmes CX DELTA et CX PRO) effectuent les calculs du résultat final des dilutions d‘échantillon faites par l‘utilisateur quand le facteur de dilution est entré dans le système lors de la programmation des échantillons.

RAPPORT DES RESULTATS

INTERVALLES DE REFERENCES

Chaque laboratoire doit établir ses propres intervalles de référence en fonction de sa population de patients. Les intervalles de référence répertoriés ci-dessous ont été tirés de la littérature spécialisée et dune étude réalisée sur les systèmes SYNCHRON.[5]

Tableau 2.0 Intervalles de référence

INTERVALLE	TYPE D‘ECHANTILLON	UNITES CONVENTIONNELLES	UNITES S.I.
Littérature	Plasma	19 – 60 µg/dL	11 – 35 µmol/L
SYNCHRON	Plasma	12 – 60 µg/dL	7 – 35 µmol/L

INTERVALLE	TYPE D‘ECHANTILLON	UNITES CONVENTIONNELLES	UNITES S.I.
Laboratoire			

Consultez la section Références (6,7,8) pour obtenir les directives de création dintervalles de référence propres au laboratoire.

Informations supplémentaires concernant le rapport des données, spécifiées par le laboratoire :

REMARQUES SUR LE PROTOCOLE

NIVEAU D‘ANTICOAGULANT TESTE

Les anticoagulants suivants ont été évalués par analyse par régression de Deming avec un minimum de 50 échantillons appariés de plasma à lhéparine de lithium et dautres échantillons de plasma. Les valeurs dammonium du plasma à lhéparine de lithium (X) comprises entre 14 et 856 µmol/L ont été comparées à celles des autres plasmas (Y). Les résultats suivants ont été produits :

Tableau 3.0 Résultats des tests d'anticoagulants

ANTICOAGULANT	NIVEAU DE L'ANTICOAGULANT TESTE	ANALYSE DE REGRESSION DEMING
Héparinate de sodium	14 Unités/mL	Y = 0,983X + 1,6; r = 0,9968
EDTA	1,5 mg/mL	Y = 0,996X - 0,5; r = 0,9971

LIMITES

1. L'ammoniaque atmosphérique peut produire des résultats artificiellement élevés.
2. Fumer est une source de contamination ammoniacal.[8]
3. La présence d'ions ammoniacaux dans les anticoagulants peut provoquer des résultats faussement élevés.
4. Cette procédure ne s'applique pas aux échantillons néonatals.
5. Les résultats déchantillon situés en dessous de la limite inférieure de la plage analytique de 9 µmol/L (16 µg/dL) doivent être rapportés comme « < 9,0 µmol/L » (« < 16 µg/dL »).
6. Les résultats d'échantillon supérieurs à 1000 µmol/l (1700 µg/dl) doivent être dilués avec de l'eau déionisée ne contenant pas d'ammoniaque et redosés.

INTERFERENCES

1. La recherche d'interférences a été effectuée sur les substances suivantes :

   Tableau 4.0 Intérferences

SUBSTANCE	ORIGINE	NIVEAU	EFFET OBSERVE SUR L'ANALYTE
Bilirubine	Porcine	30 mg/dL	INS[a]

   a INS : interférence non significative (dans les ± 10,0 µmol/L ou 4 %).

2. L'utilisation d'échantillons portant des signes d'hémolyse n'est pas recommandée car les hématies rouges lysées peuvent élever la concentration ammoniacale dans l'échantillon.
3. Les échantillons lipémiques supérieurs à 1+ (turbidité visuelle) doivent être ultra-centrifugés et les analyses refaites sur la couche sous-jacente.
4. Consulter les références (9,10,11) pour obtenir d'autres interférences causées par les médicaments, les maladies et les variables pré-analyse.

PERFORMANCES

PLAGE ANALYTICAL

La méthode du Systèmes SYNCHRON CX® pour la détermination de cette substance présente la plage analytique suivante:

Tableau 5.0 Plage analytique

TYPE D'ECHANTILLON	UNITES CONVENTIONNELLES	UNITES S.I.
Plasma	16 – 1700 µg/dL	9 – 1000 µmol/L

La limite inférieure de la plage analytique représente le niveau minimum de détection. Les valeurs d'échantillons dépassant 1000 µmol/L (1700 µg/dL) doivent être dilués avec de l'eau déionisée sans ammoniaque et redosés. Les

résultats d'échantillon inférieurs à la limite de plage analytique de 9 µmol/L (16 µg/dL) doivent être confirmés comme étant "< 9,0 µmol/L".

PLAGE RAPPORTABLE (DÉTERMINÉE SUR PLACE) :

Tableau 6.0 Plage rapportable

TYPE D'ECHANTILLON	UNITES CONVENTIONNELLES	UNITES S.I.

SENSIBILITE

La sensibilité est définie comme étant la concentration la plus faible mesurable pouvant être distinguée de zéro avec une confiance de 95 %. La sensibilité pour le dosage de AMM est de 9 µmol/L (16 µg/dL).

EXACTITUDE

Une étude de comparaison de méthodes a été réalisée sur des échantillons de patients et l'analyse des données a été faite par analyse de régression Deming.

Plasma : (plage de 16 à 733 µmol/l)

Y (Systèmes SYNCHRON CX)	= 1,018X - 5,3
N	= 82
MOYENNE (Systèmes SYNCHRON CX)	= 235
MOYENNE (Dade aca IV)[a]	= 234
COEFFICIENT DE CORRELATION (r)	= 0,9991

a aca IV est une marque déposée de Dade Behring, Inc.

Consulter les références (12) pour obtenir des directives sur la réalisation des tests d'équivalence.

PRECISION

Un Systèmes SYNCHRON CX® fonctionnant correctement doit donner des valeurs d'imprécision inférieures ou égales aux limites maximales de la performance listées ci-dessous. Les limites maximales de la performance ont été obtenues en examinant la précision de différentes techniques, des résumés de tests de compétence et de documents.

Tableau 7.0 Limites de performances maximum

TYPE DE PRÉCISION	TYPE D'ECHANTILLON	1 DS		VALEUR DE CHANGEMENT[a]		% CV
		µmol/L	µg/dL	µmol/L	µg/dL	
Intra-série	Plasma	5,0	8,5	250,0	425,0	2,0
Total	Plasma	7,5	12,8	250,0	425,0	3,0

a Lorsque la moyenne des résultats du test de la précision est inférieure ou égale à la valeur du changement, comparer l'écart type du test à l'écart type de référence indiqué ci-dessus pour déterminer l'acceptabilité du test de précision. Lorsque la moyenne des résultats du test de la précision est supérieure à la valeur du changement, comparer le % CV du test à la référence indiquée ci-dessus pour déterminer l'acceptabilité. La valeur du changement = (DS indiqué/CV indiqué) x 100.

Les données de performance comparatives du système SYNCHRON CX évaluées au moyen des instructions EP10-A du NCCLS sont présentées dans le tableau ci-dessous.[13] Chaque laboratoire doit caractériser les performances de ses instruments en vue de procéder à des comparaisons.

Tableau 8.0 Méthode d'estimation de la précision NCCLS EP10-A

TYPE D'IMPRECISION	TYPE D'ECHANTILLON	Nombre de systèmes	Nombre de points de donnée[a]	Valeur moyenne du test (µmol/L)	Moyennes et points estimés calculés selon EP10-A	
					DS	%CV
Intra-série	Contrôle 1	1	15	48	2,6	4,2
	Contrôle 2	1	15	128	3,0	2,3
	Contrôle 3	1	15	644	5,3	0,8
Total	Contrôle 1	1	15	48	2,3	4,9
	Contrôle 2	1	15	128	2,8	2,2
	Contrôle 3	1	15	644	4,9	0,8

a L'évaluation des points sérum/plasma a été déterminée en testant les données de deux systèmes, à raison d'une série par jour et d'une observation par série pendant une période de 20 jours, sur des instruments fonctionnant et entretenus selon les instructions du fabricant.

REMARQUE

Ces degrés de précision et d'exactitude ont été obtenus lors de procédures de tests spécifiques sur les Systèmes SYNCHRON CX® et ne représentent qu'un exemple de spécifications de performance de ce réactif.

INFORMATIONS SUPPLEMENTAIRES

Pour plus de renseignements sur les systèmes SYNCHRON CX, se référer au manuel SYNCHRON CX correspondant.

DOMMAGES D'EXPÉDITION

Si vous remarquez lors de la réception que le produit est endommagé, notifiez votre centre de support clinique Beckman Coulter.

RÉFÉRENCES

1. Ratliff, C. R., Hall, F. F., "Blood Ammonia Returns to the Laboratory", *Laboratory Management*, 16 (1979).
2. Ratliff, C. R., Hall, F. F., "Ammonia in Plasma Enzymatic Procedure", *Selected Methods of Clinical Chemistry*, 9:85 90 (1982).
3. Tietz, N. W., "Specimen Collection and Processing; Sources of Biological Variation", *Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd Edition, W. B. Saunders, Philadelphia, PA (1994).
4. CDC-NIH manual, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C. (1984).
5. Tietz, N. W., ed., *Fundamentals of Clinical Chemistry*, 3rd Edition, W. B. Saunders, Philadelphia, PA (1987).
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *How to Define, Determine, and Utilize Reference Intervals in the Clinical Laboratory*, Approved Guideline, NCCLS publication C28-A, Villanova, PA (1995).
7. Henry, J. B., *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 18th Edition, W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA (1991).
8. Tietz, N. W., *Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd Edition, W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA (1994).
9. Young, D. S., *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th Edition, AACC Press, Washington, D. C. (1995).
10. Friedman, R. B., Young, D. S., *Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests*, 3rd Edition, AACC Press, Washington, D.C. (1997).
11. Young, D. S., *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, 2nd Edition, AACC Press, Washington, D. C. (1997).
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples*, Approved Guideline, NCCLS publication EP9-A, Villanova, PA (1995).
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Preliminary Evaluation of Quantitative Clinical Laboratory Method*, Approved Guideline, NCCLS publication EP10-A, Wayne, PA (1998).

EC REP Beckman Coulter Ireland Inc., Mervue Business Park, Mervue, Galway, Ireland (353 91 774068)

Beckman Coulter, Inc., 4300 N. Harbor Blvd., Fullerton, CA 92835